

## 溫度對黑鯛性轉變之影響

李彥宏\* · 陳紫嫻

行政院農業委員會水產試驗所東港生技研究中心

### 摘 要

本研究探討溫度變化對黑鯛性轉變過程之生殖腺發育、性轉變比例及血清黃體促素 (LH) 濃度之影響。首先在繁殖季節前 (9 月)，將 2-3 年齡黑鯛蓄養在 33 °C，在進入繁殖季時 (12 月)，再分養至 18 °C、23 °C、28 °C 及 33 °C 水溫環境，至隔年繁殖季節末 (2 月) 採樣。結果顯示，黑鯛在自然環境下，性轉變為雌性比例 60% (水溫 23 °C)；長期處於高溫環境 (33 °C)，黑鯛性轉變為雌性比例為 0%；18 °C 組為 5.55% (1/18)；23 °C 組為 5.26% (1/19)；28 °C 組為 25% (4/16)。其中各組雄魚之平均產精量，除了 28、33 °C 組未採集到精液，對照組、18 °C 及 23 °C 組之黑鯛均有產精現象。從生殖腺組織切片觀察，高溫 33 °C 飼養下的黑鯛，雖然到了進入性轉變的繁殖季節，但是生殖腺發育卻受到抑制，僅有 1 尾黑鯛表現為雄性功能 (雄性比例 1/8)。另外於繁殖季初期 (12 月 18 日)，分別移入 18、23 和 28 °C 環境下，經過 45 天後 (2 月 1 日)，生殖腺已發育為成熟的精、卵巢，但性轉變為雌魚的比例，仍明顯低於對照組 (60%)。黑鯛 LH 濃度，在繁殖季前 (10、11 月) 及繁殖季 (1 月) 均有高值，而在高溫環境下，初期血清 LH 明顯受到抑制，但於 12 月達到高值，且回復蓄養到 23 及 28 °C 下，血清 LH 濃度有明顯增加。本研究確認溫度環境因子會影響雌雄同體魚黑鯛之性轉變機制，高溫抑制黑鯛生殖腺發育及成熟，且明顯抑制黑鯛性轉變為雌性，並影響血清 LH 濃度。

關鍵詞：黑鯛、生殖腺發育、性別比例、黃體促素

### 前 言

魚類性別決定可受環境因子的影響 (environmental sex determination)，其中溫度決定型 (temperature sex determination) 是屬於環境決定型中最常見的一種。Yamamoto (1999) 指出，在多數對熱敏感 (thermosensitive) 的魚類中，主要可區分為三種類型：隨著溫度增加，雄性化 (masculinization) 比例增加，而低溫可促進雌性化 (feminization)，例如銀漢魚類 (*Menidia menidia*, *Odonthestes bonariensis*)、慈鯛科魚類 (*Apistogramma* sp., *Oreochromis* sp.)、鰍科和鯉科魚類 (*Misgurnus anguillicaudatus*, *Carassius auratus*) 等 (Baroiller *et al.*, 1999)。高溫促進卵巢

分化，低溫誘導精巢分化類型，例如河鯰 (Channel fish, *Ictalurus punctatus*)、海鱸 (Sea bass, *Dicentrarchus labrax*) (Patino *et al.*, 1996)。不論在高溫或低溫均誘導產生單一雄性族群，中間溫度時則維持 1:1 的性別比例 (U-shape curve)，例如牙鯧 (*Paralichthys olivaceus*) (Baroiller and D'Cotta, 2001)。

在過去有關溫度對魚類生殖生理的影響，主要是針對雌雄異體魚所做的探討，例如溫度會影響鮭鱒魚類、鯉魚和吳郭魚精巢組織中類固醇的生成 (Kime and Hyder, 1983; Manning and Kime, 1985; Kime and Manning, 1986)。在雷吉牙漢魚 (pejerrey fish, *O. bonariensis*)，溫度對腦視前區 (preoptic area) 之促性腺激素釋放激素 (gonadotropin-releasing hormone, GnRH) 神經元具有影響，溫度越高神經元數目越多，且溫度增加會造成腦下垂體分泌黃體刺激激素 (luteinizing hormone, LH) 與濾泡刺激素 (Follicle-stimulating

\*通訊作者 / 屏東縣東港鎮豐漁街 67 號, TEL: (08) 832-4121; FAX: (08) 832-0234; e-mail: yhlee@mail.tfrin.gov.tw

hormone, FSH) 之細胞數增多 (Miranda and Strüssmann, 2001)。魚苗對溫度的敏感週期主要在發育中期階段，之後的溫度將不再對性別比例造成影響，例如 *M. menidia* 魚苗體長 8 - 21 mm 時，高溫會增加雄性性別決定，但在更小或更大體型魚苗時，性別比例則不受溫度影響 (Conover and Fleisher, 1986)；在尼羅吳郭魚 (*Oreochromis niloticus*)，受精 1 週後的魚苗飼養在 36 °C 環境 10 天以上，會明顯的提高雄魚比例，雖然由子代遺傳組成分析為雌性，但因高溫而造成性轉變現象 (Baroiller *et al.*, 1996)。孵化後 40 - 90 天牙鯪魚苗，會隨著養殖溫度增加，雄性化比例亦增高 (87.8%，28 °C)，魚體內 E<sub>2</sub> 含量則明顯降低 (Sun *et al.*, 2013)。對珊瑚礁魚類 *Acanthochromis polyacanthus*，水溫上升至 31.5 °C (+3 °C)，其子代雄性比例會提高到 90% (Rodgers *et al.*, 2017)。相反的，低溫蓄養斑馬魚 (*Danio rerio*) 魚苗可促進雄性化 (22 °C, 87.1%)，高溫環境處理可促進雌性化 (31 °C, 82.4%) (Sfakianakis *et al.*, 2012)。

黑鯛是雌雄同體、雄性先熟型之魚種，在第 1、2 年繁殖季時均表現為雄性，直到進入第 3 個繁殖季，族群中才有約 40% 個體性轉變為雌性。於非繁殖季期間，黑鯛的生殖腺是屬於精、卵巢共存，並以卵巢組織為主的兩性生殖腺，直到繁殖季前，精、卵巢的發育開始有競爭性的變化。在繁殖季表現為雄性的黑鯛 (1 - 3 年齡)，其生殖腺精巢發育、卵巢萎縮，而性轉變為雌性的黑鯛 (3 年齡)，則卵巢持續發育，精巢萎縮 (Du *et al.*, 2003; Wu *et al.*, 2005)。有關其性轉變機制之特性，包含 E<sub>2</sub>、11-KT、aromatase、GnRH、LH 等調控作用已有深入探討 (Chang *et al.*, 1995a, b, 1997; Lee *et al.*, 2000, 2002, 2004; Du *et al.*, 2005)。本研究目的是探討溫度影響雌雄同體魚-黑鯛，在性轉變的過程中其生殖腺發育、性別比例及生殖內分泌因子的變化。在全球暖化現象日趨嚴重的情形下，我們以黑鯛作為模式魚種，探討高溫的影響，這可作為未來研究高溫對水域生物生態影響之參考。

## 材料與方法

### 一、實驗用魚

自嘉義朴子鎮購入 2 - 3 年齡黑鯛一批，馴養

於 30 ton 水泥池內，以全海水養殖，投餵市售浮性飼料 (鱸魚配合飼料，亞洲股份有限公司)，在自然條件下成長適應環境，待進入第 3 個繁殖季前進行實驗。

### 二、實驗設計

9 月中旬開始進行試驗，先將一批黑鯛馴養在 33 °C 環境下，直到進入繁殖季節 (12 月) 再分養至不同環境溫度，研究黑鯛在繁殖季前到繁殖季，在不同溫度飼養下對其生殖內分泌和性別轉變之影響。本實驗共分為 5 組，分別為：對照組 (23 °C)、18 °C 組、23 °C 組、28 °C 組和 33 °C 組，各組處理時間表及採樣程序如下：1. 對照組：自然條件下以全海水飼養，並於實驗期間每月採樣 10 尾魚；2. 18、23、28、33 °C 之溫度處理組：9 月 18 日隨機選取 90 尾黑鯛，飼養在 33 °C 水溫之 4 ton FRP 桶中，並於 10 月 15 日進行第一次採樣，至 12 月 18 日止共採樣 3 次，每次採樣 8 尾，於 12 月 18 日採樣後，隨即將剩餘之黑鯛分為不同溫度處理組：18 °C 20 尾、23 °C 20 尾、28 °C 18 尾、33 °C 8 尾，同樣飼養於 4 ton FRP 水槽中，以冷水機及加溫控制器控制水溫，分組後每 2 週抽血 1 次，抽血期間記錄每尾魚產精或產卵之情況，為期 45 天不同溫度蓄養，並於隔年 2 月 1 日，將所有實驗魚進行犧牲採樣。

### 三、分析項目及方法

#### (一) 麻醉及抽血

使用濃度 300 - 500 ppm 麻醉劑 (2-phenoxyethanol, Showa Chem. Co., Tokyo, Japan) 適度麻醉黑鯛後，以 3 ml 針筒從魚的尾柄動脈抽血，取得之血液於 4 °C 下靜置 6 hr 後，以 8000 rpm、離心 15 min，取上層血清移入 1.5 ml 微量離心管，保存於 -20 °C 冰箱中，供日後分析 LH 濃度使用。

#### (二) 組織切片及染色

採樣之前以飽和苦味酸 (picric acid) 溶液 750 ml、40% 中性福馬林溶液 250 ml 及冰醋酸 (glacial acetic acid) 50 ml，調配成 Bouin 固定液，

採樣後之生殖腺浸泡至固定液中（生殖腺與固定液比例為 1：9），固定 48 - 72 hr 後，以 70% 酒精替換固定液，直到去除苦味酸所呈現之黃色，供日後組織切片使用。行組織切片前將樣本自 70% 酒精中取出，以自動脫水機 (Lecia TP1020, Nussloch, Germany) 經過下列步驟完成脫水：70%酒精 1 hr、80% 酒精 1 hr、90% 酒精 1 hr、99% 酒精 40 min、99% 酒精 1 hr、xylene 30 min、xylene 30 min、xylene: paraffin = 1：1 溶液 5 min 及 paraffin 20 min，完成脫水和浸蠟之步驟，再以自動包埋機 (Shandon Histoecentre™2, UK) 進行石蠟包埋，並將蠟塊修整至適當大小，以自動切片機 (Shandon Finesse-Et, Thermo Electron Corporation, Waltham, MA, UK) 將組織切片 (厚度 6  $\mu\text{m}$ )，再以蘇木紫 (hematoxylin)、伊紅 (eosin) 染色。

### (三) 血清 LH 測定

已純化之黑鯛 LH 標準品的濃度範圍為 0.1875 - 12 ng/100  $\mu\text{l}$  in 0.01 M PBS-G, pH 7.4，分析樣品之稀釋倍數為：血清 50 - 100  $\mu\text{l}$  加入 PBS-G 使最終體積為 200  $\mu\text{l}$ ，再加入 100  $\mu\text{l}$  LH 一次抗體 (稀釋 1/8000 倍) 及 100  $\mu\text{l}$  之標示放射性碘 (LH-I<sup>125</sup>) (約 25000 cpm)，振盪混合後於 4°C 下靜置反應 48 hr，加入 100  $\mu\text{l}$  二次抗體 (goat anti-rabbit serum, 稀釋 1/1500 倍) 及 100  $\mu\text{l}$  normal rabbit serum (稀釋 1/250 倍)，於 4°C 下反應 1 hr 後，再加入 1.5 ml PEG 溶液 (polyethylenglycol 6000 in 0.01 M PBS buffer, pH 7.4)，室溫下反應 15 min，以 2800 rpm 離心 40 min，倒掉上層液後以  $\gamma$ -counter 測定 cpm 值，並依據標準曲線計算血清 LH 含量 (Du *et al.*, 2001)。

### (四) 統計分析

資料使用 SPSS for Windows 10.5 版統計套裝軟體，各實驗組別均計算平均值及平均值標準誤差 (standard error of mean, SEM)，並以 Student's *t*-test 及 ANOVA-Duncan's multiple rang test 進行統計分析，以  $p < 0.05$  表示各組之平均數在統計上有顯著差異。

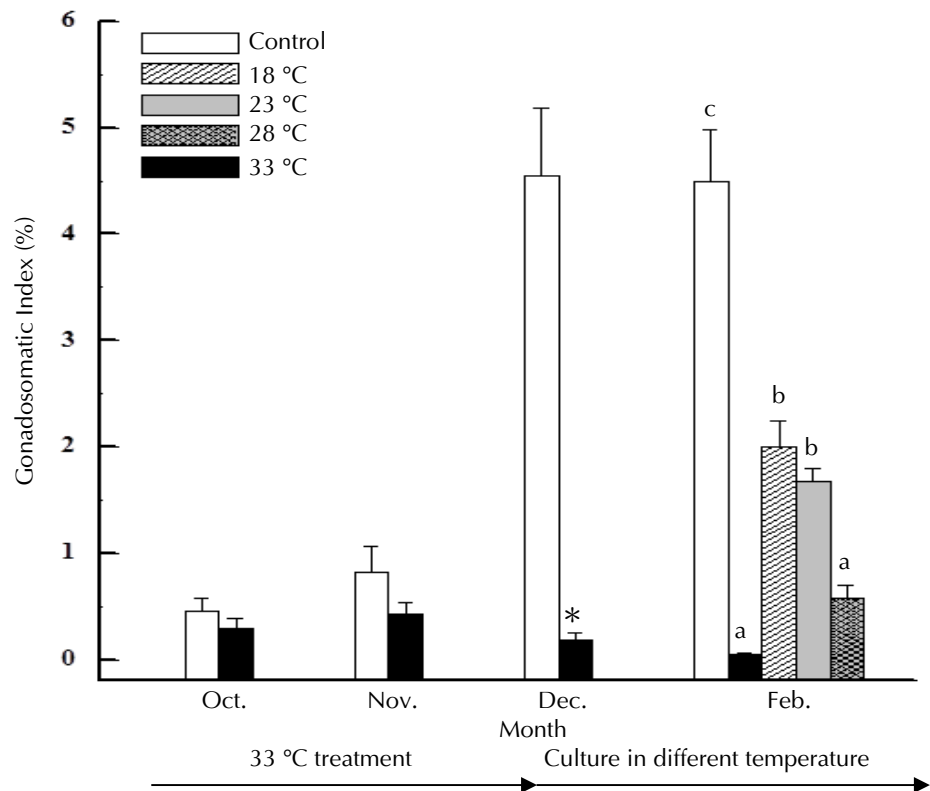
## 結 果

### 一、溫度對 2 - 3 齡黑鯛於繁殖季生殖腺性別發育之影響

自然環境飼養的黑鯛，其生殖腺指數 (Gonadosomatic index, GSI) 之變化，在 11 月份僅有  $0.82 \pm 0.24\%$ ，於 12 月開始顯著上升 ( $p < 0.05$ )，之後生殖腺持續發育，並於 2 月份增加至  $4.50 \pm 0.48\%$  (Fig. 1)。溫度處理組於 33°C 高溫環境下，GSI 均明顯比對照組低 ( $p < 0.05$ )，12 月時 GSI 為  $0.19 \pm 0.06\%$ ，2 月份時 GSI 僅達  $0.05 \pm 0.01\%$ ，33°C 高溫促使黑鯛生殖腺不發育。但另一方面，雖然在高溫條件下飼養 (10 - 12 月)，在進入繁殖季時 (12 月)，將溫度調整為 18°C、23°C、28°C 後，於 2 月份採樣，其 GSI 即有顯著的變化，對照組為  $4.50 \pm 0.475\%$ 、18°C 組  $1.97 \pm 0.25\%$ 、23°C 組  $1.18 \pm 0.13\%$ 、28°C 組  $0.58 \pm 0.12\%$ 、33°C 組  $0.05 \pm 0.01\%$  (Fig. 1)。

由生殖腺組織切片觀察，對照組黑鯛在 12 月份時，組織切片顯示，已有部分個體性轉變為雌魚，卵巢組織中卵徑介於 250 - 400  $\mu\text{m}$ ，已進入卵黃堆積期。而 33°C 處理組於 12 月 17 日採樣時，其組織切片顯示，均屬於未發育階段之兩性生殖腺，卵細胞之卵徑在 100  $\mu\text{m}$  以下，屬於初級卵母細胞期 (primary oocyte stage)，精巢之生殖細胞皆為精原細胞 (spermatogonium)。於 2 月份採樣，各組別生殖腺有不同發育階段，33°C 組從外觀上觀察，生殖腺呈現萎縮，觀察組織切片，7 尾為未發育之兩性階段 (7/8)，一尾黑鯛表現為雄性功能，精巢組織中有精細胞分佈其中 (雄雌性比例為 1/8) (Table 1, Fig. 2)。自 12 月 18 日起將高溫蓄養之黑鯛移入不同溫度飼養，經過 45 天後，生殖腺組織切片顯示，精、卵巢已開始發育並達成熟階段。18°C 組性轉變為雌魚之個體，生殖腺卵巢中的卵細胞卵徑約 200  $\mu\text{m}$ ，卵細胞之細胞核中多具核仁，細胞質中有少量卵黃成份。雄魚精巢組織充滿精子，並有產精現象發生。23°C 與 28°C 組，性轉變為雌魚之個體，卵細胞已進入卵黃堆積期，卵徑達 450  $\mu\text{m}$ ，成熟的雄魚精巢則有精細胞和精子分佈其中。

由以上結果得知，高溫環境 (33°C) 有顯著



**Fig. 1** Effects of temperature on gonadosomatic index (GSI) in 2- to 3-year-old black porgy that were first reared at 33 °C in September and then divided into control, 18 °C, 23 °C, 28 °C, and 33 °C treated groups from December to February in the next year. Data are shown as the mean  $\pm$  SEM. The different letters indicate the significant differences between the groups ( $p < 0.05$ ). An asterisk indicates a significant difference between the control group and the 33 °C treated group.

抑制黑鯛生殖腺發育與成長的作用，但於繁殖季初期 (12 月 18 日)，再將高溫蓄養的黑鯛移入常溫或低溫環境下，生殖腺就能開始發育，且性轉變機制仍持續進行並達成成熟狀態。

## 二、溫度對 2 - 3 齡黑鯛性別比例之影響

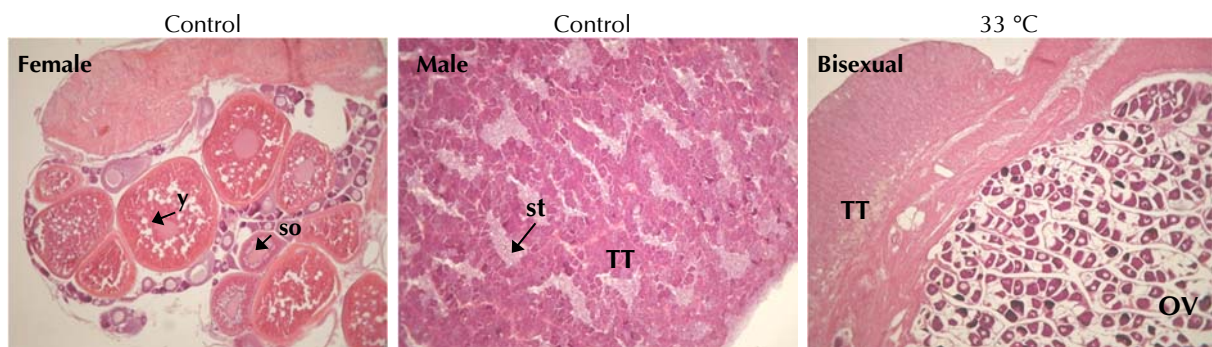
各組在為期 45 天不同溫度處理後，於 2 月 1 日進行最終採樣，藉由生殖腺組織切片圖得知雌、雄性別比例，並區分雌、雄性別之 GSI、產精量和血清 LH 濃度，結果如 Table 1 所示。對照組共計 10 尾，雄魚 4 尾、雌魚 6 尾，性轉變為雌魚比例為 60% (6/10)。18 °C 組共計 18 尾 (試驗期間死亡 2 尾)，雄魚 16 尾、雌魚 1 尾，兩性階段 1 尾，性轉變為雌魚比例為 5.55% (1/18)。23 °C 組共計 19 尾 (試驗期間死亡 1 尾)，雄魚 18 尾、雌魚 1 尾，

性轉變為雌魚比例為 5.26% (1/19)。28 °C 組共計 16 尾 (試驗期間死亡 2 尾)，雄魚 11 尾、雌魚 4 尾，兩性階段 1 尾，性轉變為雌魚比例為 25%。33 °C 組共計 8 尾，雄魚 1 尾、兩性階段 7 尾，性轉變為雌魚比例為 0%。其中各組雄魚之平均產精量，除了 28、33 °C 組未採集到精液，對照組、18 °C 及 23 °C 組之黑鯛均有產精現象。

由結果得知，在高溫 33 °C 飼養下的黑鯛，雖然到了進入性轉變的繁殖季節，但是生殖腺發育卻受到抑制，僅有 1 尾黑鯛表現為雄性功能，但未採集到精液 (雄性比例 1/8)。而在繁殖季前於高溫飼養的黑鯛，於繁殖季初期 (12 月 18 日)。分別移入 18、23 和 28 °C 環境下，經過 45 天後 (2 月 1 日)，生殖腺已發育為成熟的精、卵巢，但性轉變為雌魚的比例，仍明顯低於對照組 (60%)，顯示黑鯛性轉變的結果會受到高溫作用而有影響。

**Table 1** Effects of temperature on sex ratio, gonadal somatic index (GSI), semen volume, and serum luteinizing hormone (LH) in 2- to 3-year-old yr black porgy that were first reared at 33 °C in September and then divided into control, 18 °C, 23 °C, 28 °C, and 33 °C treated groups from December to February in the next year and sacrificed in February

Treatment	Fish number			GSI (%)			Semen(ml)			Serum LH (ng/ml)		
	♂	♀	♀/♂	♂	♀	♀/♂	♂	♀	♀/♂	♂	♀	♀/♂
Control	4	6	0	2.57 ± 0.33	3.91 ± 0.76	-	0.12 ± 0.06	-	-	18 ± 12.12	16.6 ± 5.54	-
18 °C	16	1	1	1.97 ± 0.28	2.58	1.42	0.25 ± 0.11	-	-	9.23 ± 2.51	18.62	2.59
23 °C	18	1	0	1.72 ± 0.13	0.94	-	0.89 ± 0.21	-	-	17.78 ± 3.42	28.5	-
28 °C	11	4	1	0.43 ± 0.11	1.01 ± 0.26	0.76	-	-	-	39.75 ± 12.83	10.93 ± 5.81	64.5
33 °C	1	0	7	0.11	-	0.04	-	-	-	3.66	-	5.55 ± 2.59



**Fig. 2** Transverse sections of the gonadal tissue stained with hematoxylin and eosin from fish reared at 33 °C for 3 months (from September to December). Black porgy began sex change. Vitellogenic oocytes (female) and spermatids (male) were observed in the control group fish. Testes and primary oocytes coexisted in the 33 °C group. (Ov, ovarian tissue; so, secondary oocyte; sg, spermatogonia; st, spermatid; TT, testicular tissue; y, yolk).

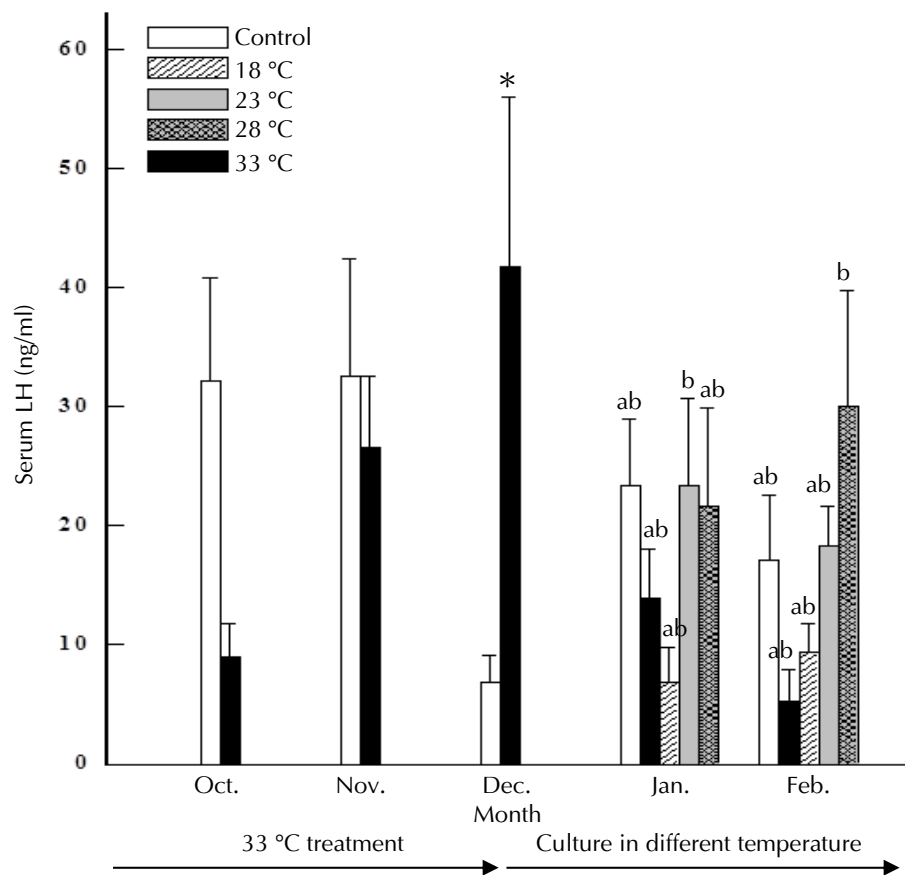
### 三、溫度對 2 - 3 齡黑鯛血清 LH 濃度之影響

2 - 3 年齡黑鯛經不同溫度飼養後，血清 LH 濃度之變化 (Fig. 3)。其中對照組黑鯛之血清 LH 濃度於繁殖季前有一高值 (約 32 ng/ml, 10、11 月)，12 月份下降後至 1 月份又有顯著上升，於 2 月份達  $17.14 \pm 5.47$  ng/ml。而黑鯛在繁殖季前於高溫 33 °C 飼養下，一開始 10 月份時，血清 LH 濃度明顯低於對照組，但 11 月起有顯著增加，於 12 月增加至最高，且明顯高於對照組，達到  $41.72 \pm 14.19$  ng/ml。接著在繁殖季初期 (12/18)，高溫飼養的黑鯛再分別蓄養在不同降溫環境下，血清 LH 濃度變化的情況分別為：1 月份時，18 °C 組明顯為最低，而 23 °C 組最高，仍維持 33 °C 飼養之黑鯛，血清 LH 濃度隨著進入繁殖季而明顯下降，在

2 月份時為最低值，僅  $5.28 \pm 2.6$  ng/ml，33 °C 組和 18 °C 組血清 LH 濃度明顯低於 28 °C 組。各組於不同溫度處理後，依黑鯛雌、雄與兩性階段作區分，其血清 LH 濃度 (Fig. 4)。28 °C 組之雄性 LH 濃度平均較 18 °C 組高，而雌性之血清 LH 濃度中，對照組與 28 °C 無顯著差異。33 °C 組均為兩性階段生殖腺，且血清 LH 濃度平均值均維持在低濃度。

## 討 論

在本實驗中不同溫度的處理確實會對 2 - 3 齡可性轉變的黑鯛產生影響，在高溫 (33 °C) 環境下，明顯抑制黑鯛生殖腺的發育，使性轉變的過程無法進行。於繁殖季前 (9 月)，2 - 3 齡黑鯛才僅有 1 尾表現為雄性 (1/8)，其餘皆為兩性未成熟之



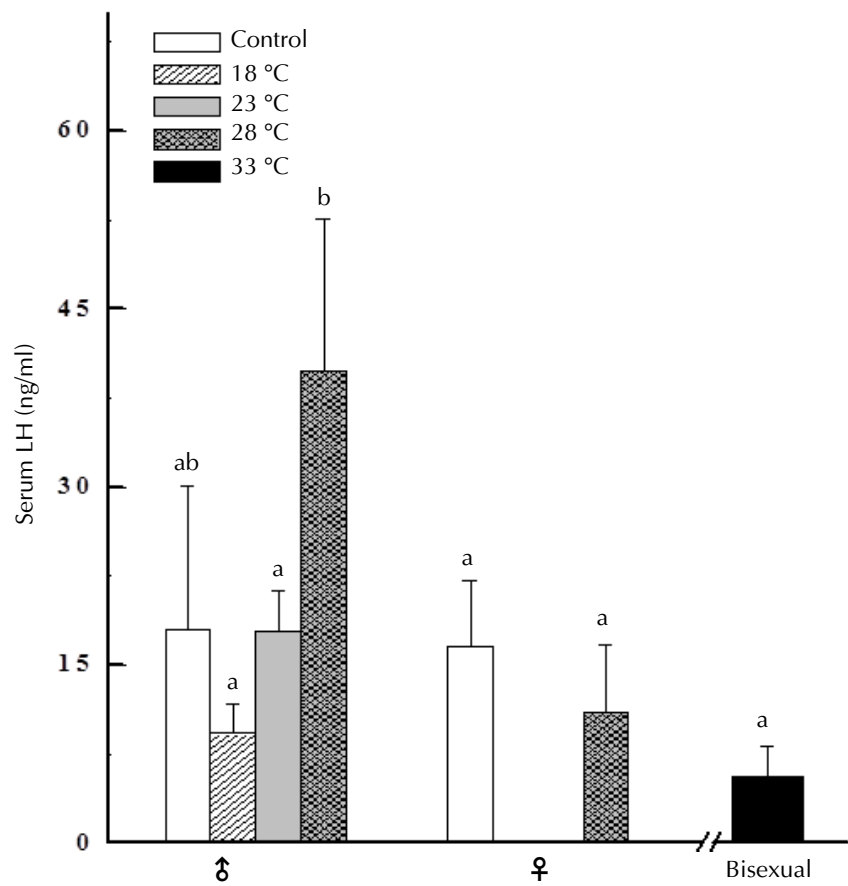
**Fig. 3** Effects of temperature on serum luteinizing hormone (LH) in 2- to 3-year-old black porgy that were first reared at 33 °C in September and then divided into control, 18 °C, 23 °C, 28 °C, and 33 °C treated groups from December to February in the next year. Data are shown as the mean  $\pm$  SEM. The different letters indicate the significant differences between the groups ( $p < 0.05$ ). An asterisk indicates a significant difference between the control group and the 33 °C treated group..

生殖腺，並無性轉變為雌魚的現象，這和自然環境中，黑鯛於第3個繁殖季起，約有40%性轉變為雌性，及本實驗對照組60%性轉變為雌性的現象大不相同，有顯著差異。在本實驗中，高溫同樣抑制2-3齡黑鯛性轉變為雌魚，但也可能是溫度太高，令精巢受到抑制，故僅有1隻(1/8)表現出雄性功能，且GSI很小。在多數有關溫度對雌雄異體魚於性別分化的表現上，高溫促使基因型雌魚性轉變為雄魚，例如：牙鯀 (Kitano *et al.*, 1999) 尼羅吳郭魚 (Kwon *et al.*, 2002) 等，其造成的原因，可能高溫對卵母細胞及精原細胞發育的影響有關，在斑馬魚的研究發現，高溫會使基因型為雌性的生殖腺卵母細胞產生細胞凋亡 (apoptosis) 之現象，去除掉環化酵素 (aromatase) 活性，精原細

胞開始分化，進而性轉變為雄性 (Uchida *et al.*, 2004)。

在本實驗溫度對性別比例表現的影響，對照組的黑鯛於2月份採樣時，性轉變為雌魚的比例為60% (6/10)，18 °C組性轉變為雌魚比例為6% (1/18)，23 °C組性轉變為雌魚比例為5% (1/19)，28 °C組性轉變為雌魚比例為25% (4/16)，33 °C組性轉變為雌魚比例為0% (0/8)。顯示繁殖季前高溫處理對黑鯛性轉變有抑制作用。但是進入繁殖季時，使2-3齡黑鯛回復到較低溫環境中，黑鯛仍會性轉變，但比例明顯降低很多，且精巢亦能發育成熟。而性轉變為雌魚的比例降低，沒有呈現隨溫度降低遞增的可能原因，可能是於繁殖季前在高溫的環境下，抑制了調控性轉變的因素所造成，黑





**Fig. 4** Effects of temperature on serum luteinizing hormone (LH) concentrations in 2- to 3-year-old male, female, and hermaphroditic black porgy during spawning season. Data are shown as the mean $\pm$ SEM. The different letters indicate the significant differences between the groups ( $p < 0.05$ ).

鯛在 33 °C 環境下，回復到 28 °C 環境中，其卵巢細胞可逐漸復原發育，因此有 25% 性轉變為雌性，但突然回復到 23 °C 及 18 °C 低溫（繁殖季節溫度），精巢亦開始發育，導致 2 組黑鯛性轉變為雌魚的比例降低很多。

在卵巢發育的表現上，比較各組性轉變為雌魚的生殖腺，對照組、23 °C 及 28 °C 組卵巢組織中，卵母細胞已有卵黃堆積的現象，卵徑可達 400  $\mu$ m，18 °C 處理組雖然也有 1 尾性轉變為雌魚，但是卵巢組織中卵母細胞的發育僅屬於前卵黃堆積期階段，卵細胞卵徑在 200  $\mu$ m 左右，再對照 GSI 和血清 LH 濃度的表現，18 °C 處理組於繁殖季時 GSI 較 23 °C、28 °C 組來的高，但是血清 LH 濃度則低於對照組和 23 °C、28 °C 組，因此推測可能是較低的血清 LH 濃度，使卵巢發育表現仍停留在生成中階段。在其他魚類有關溫度對性別分化期間的表現方面，雷吉牙漢魚的雌性族群會隨著溫度升高而降低，15 - 19 °C 可產生 100% 雌性，到了 29 °C 時則為 0%，而且 GTH 的表現量於性別分化前最高 (Miranda *et al.*, 2001)。

在血清 LH 方面，對照組血清 LH 濃度變化與先前的研究一致 (Lee *et al.*, 2000; Du *et al.*, 2005)，均在繁殖季前與繁殖季時，有 LH 的高值出現。實驗結果中，高溫雖然會明顯抑制 1 - 2 齡黑鯛之血清 LH 濃度但仍有季節的變化，而本實驗中，一開始的高溫處理，同樣抑制黑鯛血清 LH 含量 (10 月) (Fig. 4)，之後血清 LH 含量增加，在 12 月達到最高值，這顯示高溫對黑鯛腦下垂體分泌 LH 有抑制作用，但進入繁殖季後，黑鯛生殖內分泌系統（腦-腦下垂體-生殖腺）仍正常進行，故血清 LH 濃度仍有繁殖季的季節性變化，而溫度對生殖腺的影響，則又是另外層次的問題。黑鯛在高溫處理後 (10 - 12 月)，於 12 月 18 日降至不同溫度環境，血清 LH 變化顯然與溫度變化有關。在 2 月時，回到 28 °C 組之 LH 濃度明顯高於 18 °C 與 33 °C 組。在雷吉牙漢魚，溫度升高會增加腦下垂體 LH 與 FSH 之分泌細胞 (Miranda *et al.*, 2001)。故溫度能影響黑鯛血清 LH 濃度，但調控作用如何進行仍不清楚。

在 2 - 3 齡黑鯛於性轉變的階段，高溫會明顯

抑制生殖腺的發育，使生殖腺停留在兩性未成熟組織，並且高溫處理後會抑制或影響黑鯛性轉變。這是相當有趣的，雖高溫會抑制黑鯛血清 LH 濃度，但與繁殖季 LH 的調控又有區別。目前本實驗僅能得知，溫度的確能影響黑鯛生殖生理，但如何進行調控？則需要更深入的研究。

## 參考文獻

- Baroiller, J. F. and H. D'Cotta (2001) Environment and sex determination in farmed fish. *Comp. Biochem. Physiol.*, 130: 399-409.
- Baroiller, J. F., Y. Guiguen and A. Fostier (1999) Endocrine and environmental aspects of sex differentiation in fish. *Cell. Mol. Life Sci.*, 55: 910-931.
- Baroiller, J. F., I. Nakayama, F. Foresti and D. Chourrout (1996) Sex determination studies in two species of teleost fish, *Oreochromis niloticus* and *Leporinus elongatus*. *Zool. Stud.*, 35: 279-285.
- Chang, C. F., E. L. Lau and B.Y. Lin (1995a) Estradiol-17 $\beta$  suppresses testicular development and stimulates sex reversal in protandrous black porgy, *Acanthopagrus schlegeli*. *Fish Physiol. Biochem.*, 14: 481-488.
- Chang, C. F., E. L. Lau and B. Y. Lin (1995b) Stimulation of spermatogenesis or of sex reversal according to the dose of exogenous estradiol-17 $\beta$  in juvenile males of protandrous black porgy, *Acanthopagrus schlegeli*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 100: 355-367.
- Chang, C. F., B. Y. Lin, E. L. Lau, M. F. Lee, W. S. Yueh, C. N. Chang, Y. H. Lee, P. Tacon, F. Y. Lee, J. L. Du, and L. T. Sun (1997) The endocrine mechanism of sex reversal in the protandrous black porgy, *Acanthopagrus schlegeli*: a review. *Chin. J. Physiol.*, 40: 197-205.
- Conover, D. O. and M. Fleisher (1986) Temperature-Sensitive Period of Sex Determination in the Atlantic Silverside, *Menidia menidia*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 43: 514-520.
- Du, J. L., Y. H. Lee, W. S. Yueh and C. F. Chang (2005) Seasonal profiles of brain and pituitary gonadotropin-releasing hormone and plasma luteinizing hormone in relation to sex change of protandrous black porgy, *Acanthopagrus schlegeli*. *Biol. Reprod.*, 72: 922-931.
- Du, J. L., B. Y. Lin, W. S. Yueh, C. L. He, M. F. Lee, L. S. Sun and C. F. Chang (2003) Estradiol, aromatase and steroid receptors involved in the sex change of protandrous black porgy, *Acanthopagrus schlegeli*. *Fish Physiol. Biochem.*, 28: 131-133.
- Du, J. L., C. Y. Lee, P. T. Tacon, Y. H. Lee, F. P. Yen, H. Tanaka, S. Dufour and C. F. Chang (2001) Estradiol-17 $\beta$  stimulates gonadotropin  $\Pi$  expression and release in the protandrous male black porgy, *Acanthopagrus schlegeli* Bleeker: a possible role in sex change. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 121: 135-145.
- Kime, D. E. and M. Hyder (1983) The effect of temperature and gonadotropin on testicular steroidogenesis in *Sarotherodon (tilapia) mossambicus* in vitro. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 50: 105-115.
- Kime, D. E. and N. J. Manning (1986) Maturational and temperature effects on steroid hormone production by testes of the carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture*, 54: 49-55.
- Kitano, T., K. Takamune, T. Kobayashi, Y. Nagahama and S. I. Abe (1999) Suppression of P450 aromatase gene expression in sex-reversed males produced by rearing genetically female larvae at a high water temperature during a period of sex differentiation in the Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *J. Mol. Endocrinol.*, 23: 167-176.
- Kwon, J. Y., B. J. McAndrew and D. J. Penman (2002) Treatment with an aromatase inhibitor suppresses high-temperature feminization of genetic male (YY) Nile tilapia. *J. Fish Biol.*, 60: 625-636.
- Lee, Y. H., W. S. Yueh, J. L. Du, L. T. Sun and C. F. Chang (2002) Aromatase inhibitors block natural sex change and induce male function in the protandrous black porgy, *Acanthopagrus schlegeli* Bleeker: Possible mechanism of natural sex change. *Biol. Reprod.*, 66: 1749-1754.
- Lee, Y. H., G. C. Wu, J. L. Du and C. F. Chang (2004) Estradiol-17 $\beta$  induce a reversible sex change in the fingerlings of protandrous black porgy, *Acanthopagrus schlegeli*: the possible roles of luteinizing hormone in sex change. *Biol. Reprod.*, 71: 1270-1278.
- Lee, Y. H., F. Y. Lee, W. S. Yueh, P. Tacon, J. L. Du, C. N. Chang, S. R. Jeng, H. Tanaka and C. F. Chang (2000) Profiles of gonadal development, sex steroids, aromatase activity and gonadotropin II in the controlled sex changes of protandrous black porgy, *Acanthopagrus schlegeli*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 119: 111-120.



- Manning, N. J. and D. E. Kime (1985) The effect of temperature on testicular steroid production in the rainbow trout, *Salmo gairdneri* in vitro and in vivo. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 377-382.
- Miranda, L. A. and C. A. Strüssmann (2001) Immunocytochemical identification of GtH1 and GtH2 cells during the temperature-sensitive period for sex determination in pejerrey, *Odontesthes bonariensis*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 124: 45-52.
- Patino, R., K. B. Davis and J. E. Schoore (1996) Sex differentiation of channel catfish gonads: normal development and effects to temperature. *J. Exp. Zool.*, 276: 209-218.
- Rodgers, G. G., J. M. Donelson and P. L. Munday (2017) Thermosensitive period of sex determination in the coral-reef damselfish, *Acanthochromis polyacanthus* and the implications of projected ocean warming. *Coral Reefs*, 36: 131-138.
- Sfakianakis, D. G., I. Leris, C. C. Mylonas and M. Kentouri (2012) Temperature during early life determines sex in zebrafish, *Danio rerio* (Hamilton, 1822). *J. Biological Res.*, 17:68-73.
- Sun, P., F. You, D. Ma, J. Li and P. Zhang (2013) Sex steroid changes during temperature-induced gonadal differentiation in *Paralichthys olivaceus* (Temminck & Schegel, 1846). *J. Appl. Ichthyol.*, 29: 886-890.
- Uchida, D., M. Yamashita, T. Kitano and T. Iguchi (2004) An aromatase inhibitor or high water temperature induce oocyte apoptosis and depletion of P450 aromatase activity in the gonads of genetic female zebrafish during sex-reversal. *Comp. Biochem. Physiol.*, 137: 11-20.
- Wu, G. C., J. L. Du, Y. H. Lee, M. F. Lee and C. F. Chang (2005) Current status of genetic and endocrine factors in sex change of protandrous black porgy, *Acanthopagrus schlegelii*. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1040: 206-214.
- Yamamoto, E., (1999) Studies on sex-manipulation and production of cloned population in hirame, *Paralichthys olivaceus* (Temminck et Schlegel). *Aquaculture*, 173: 235-246.

## The Effect of Temperature on Sex Change in Protandrous Black Porgy (*Acanthopagrus shlegeli*)

Yan-Horn Lee\* and Tzyy-Ing Chen

Tungkang Biotechnology Research Center, Fisheries Research Institute

### ABSTRACT

This study aimed to determine the effects of temperature on gonadal development, sex change ratio and serum luteinizing hormone (LH) concentration in hermaphrodite protandrous black porgy, *Acanthopagrus schlegeli*. Before the breeding season (September), 2- to 3-year-old black porgy were first reared at 33 °C, then these fish were divided into four groups that were further reared at 18 °C, 23 °C, 28 °C and 33 °C at the beginning of the spawning season (December). The fish were then sacrificed at the end of the breeding season in the next year (February). The results indicated that 60% of black porgy had a sex-change to female in the control group (23 °C). In the high-temperature group (33 °C), no black porgy changed sex, while the female proportions of the other groups were 5.55% (18 °C), 5.26% (23 °C), and 25% (28 °C) after 45 days. Spermination was observed in the 18 °C, 23 °C, and control groups. In terms of histology, the gonadal development of the 33 °C -reared fish was suppressed, and only one of the fish had male function (that is, spermids were observed) during spawning season. In the other groups, the gonads of the fish had already developed into ripe ovaries or testes after 45 days of rearing, but the female ratios in these groups were obviously lower than that in the control group (60%). The serum LH concentration of the control fish surged during the prespawning (Oct. and Nov.) and spawning seasons (Feb.), but the LH surge was observed only in one fish from the 33 °C -reared group. In the 23 °C - and 28 °C -reared groups, the serum LH levels increased after 45 days of rearing. This research confirmed that high water temperature influences sex change mechanism in hermaphroditic black porgy through the inhibition of gonadal development and gonadal maturation, as well as its effects on sex change in black porgy and serum LH concentration.

**Key words:** black porgy, gonadal development, sex ratio, luteinizing hormone (LH)

---

\*Correspondence: No.67, Fongyu St., Tungkang, Pingtung 92845, Taiwan. Tel: (08) 8324121 ext. 275; Fax: (08) 832-0234; E-mail: yhlee@mail.tfrin.gov.tw